

Studi penyebaran Tobacco Mosaic Virus Strain Orchid dan Cymbidium Mosaic Virus dengan Metode DAS ELISA pada Tanaman Anggrek Komersial di Pulau Jawa dan Bali serta Teknologi Pembebasannya
(Studies on the Distribution of TMV-O and CymMV on Commercial Orchids in Java and Bali Islands by Using the DAS ELISA Method and Technology for Their Elimination)

Muharam, A¹⁾, Sulyo, Y²⁾, Rahardjo, IB²⁾, Diningsih, E²⁾, dan Suryanah²⁾

¹⁾Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian, Jl. Tentara Pelajar No 10, Bogor 16114

²⁾Balai Penelitian Tanaman Hias, Jl. Raya Ciharang - Pacet, Cianjur 43253

E-mail : agus.muhamam55@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 10 Desember 2012 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 17 Januari 2013

ABSTRAK. *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) dan *tobacco mosaic virus strain orchid* (TMV-O) merupakan dua virus yang paling penting pada tanaman anggrek di Indonesia dan di negara lain pengekspor anggrek. Infeksi kedua virus tersebut pada tanaman anggrek dapat menghambat pertumbuhan dan menurunkan hasil dan kualitas bunga. Sampai saat ini belum diketahui status penyebaran kedua virus utama tersebut di Indonesia. Penelitian bertujuan (a) mendapatkan data dan informasi status penyebaran CymMV dan TMV-O pada anggrek komersial di sentra-sentra produksi di Provinsi Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, DI Yogyakarta, serta Bali dan (b) mendapatkan konsentrasi optimal senyawa antiviral ribavirin dalam eliminasi CymMV pada bahan perbanyak tanaman anggrek *Dendrobium*. Sampel dikumpulkan dari perbenihan dan petani penganggrek di enam provinsi. Metode *double antibody sandwich enzyme linked immuno sorbent assay* (DAS ELISA) digunakan untuk deteksi virus dalam tiap sampel. Percobaan eliminasi virus dilaksanakan di Laboratorium Virologi, Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung, Pacet, Cianjur dari Bulan Desember 2010 hingga April 2011. Tahap percobaan meliputi (a) perbanyak *protocorm like bodies* (plbs) *Dendrobium* varietas Jayakarta yang terinfeksi CymMV pada media Vacin & Went cair dan (b) uji eliminasi CymMV dengan perlakuan antiviral ribavirin. Rancangan acak lengkap digunakan dalam uji eliminasi CymMV dengan perlakuan lima taraf konsentrasi ribavirin, yaitu 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm, dengan tiga ulangan. Hasil deteksi infeksi CymMV dan TMV-O dari sampel yang dikumpulkan dari 22 kabupaten/kota menunjukkan adanya keragaman persentase tanaman anggrek terinfeksi CymMV dan TMV-O. Infeksi CymMV dan TMV-O pada sampel masing-masing sebesar 0,00 – 79,00% dan 4,00 – 97,92%. Sampel yang terinfeksi bersama oleh kedua virus tersebut ialah sebesar 0,00 – 62,00%. Insiden infeksi virus anggrek tersebut tampaknya bergantung pada jenis dan umur tanaman serta daerah pembudidayaan. Antiviral ribavirin cukup efektif untuk membebaskan infeksi CymMV pada plbs *Dendrobium* varietas Jayakarta. Konsentrasi optimum antiviral ribavirin yang dapat membebaskan 100% CymMV pada plbs ialah 30 ppm pada subkultur ketiga tanpa mengganggu pertumbuhannya. Pemanfaatan antiviral ribavirin untuk eliminasi CymMV pada plbs sangat penting dalam rangka pengadaan benih anggrek bebas virus, sehingga tanaman anggrek menghasilkan mutu bunga yang optimal sesuai dengan preferensi konsumen.

Katakunci : *Cymbidium mosaic virus*; *Tobacco mosaic virus strain orchid*; DAS ELISA; Eliminasi; *Dendrobium*; Antiviral; Ribavirin

ABSTRACT. *Cymbidium mosaic virus* (CymMV) and *tobacco mosaic virus strain orchid* (TMV-O) are important viruses on orchids in Indonesia and other orchid exporting countries. Infection of the viruses on orchids inhibits plant growth and decreases the yield and flower quality. Up to now there is no data available on the distribution status of both important viruses in Indonesia. The study was aimed (a) to obtain data and information of distribution status of CymMV and TMV-O on commercial orchids in orchid producing centers in six provinces i.e. Banten, West Java, Central Java, East Java, DI Yogyakarta, and Bali, and (b) to determine the optimum concentration of ribavirin for the elimination of CymMV infection on plbs of *Dendrobium*. Orchid tissue samples were collected from nurseries and orchid growers in the six provinces. The double antibody sandwich enzyme linked immuno sorbent assay (DAS ELISA) method was used to detect the occurrence of the viruses in each sample. The elimination test was carried out at The Virology Laboratory of Indonesian Ornamental Crops Research Institute (IOCRI), Segunung – Pacet, Cianjur, West Java, from December 2010 to April 2011. Consecutive steps of this experiment were: (a) propagation of CymMV infected plbs of *Dendrobium* Jayakarta in liquid medium of Vacin & Went, and (b) elimination of CymMV with antiviral ribavirin. A completely randomized design was used in the CymMV elimination experiment. The treatment was the application of ribavirin concentrations i.e. 0, 10, 20, 30, 40, and 50 ppm with three replications. The result of virus detection indicated that the occurrence of variation on infection percentages of the viruses. Infection of CymMV and TMV-O on collected samples from 22 districts or cities was 0.00 to 79.00% and 4.00 to 97.92%, respectively. Samples infected by both viruses varied from 0.00 to 62.00%. The incidence of the viruses infection was depended upon orchid types and plant ages, and also cultivation areas. Antiviral ribavirin was satisfactorily effective to eliminate CymMV in the plbs of *Dendrobium* Jayakarta. Optimum concentration of ribavirin to completely eliminate CymMV (100%) in the plbs was 30 ppm at the third plbs subcultures without disturbing its growth. The utilization of ribavirin on the elimination of CymMV in infected orchid plbs was very important to develop orchid virus-free planting materials. In turn, an orchid plant originated from a virus-free planting material will result in good quality flowers to fulfill consumer's preference.

Keywords: *Cymbidium mosaic virus*; *Tobacco mosaic virus strain orchid*; DAS ELISA; Elimination; *Dendrobium*; Antiviral; Ribavirin

Anggrek merupakan komoditas tanaman hias yang sangat potensial dan banyak dibudidayakan secara komersial sebagai sumber pendapatan penganggrek di Indonesia. Konsumsi masyarakat Indonesia terhadap komoditas tersebut cukup tinggi, tetapi masih mengandalkan impor, khususnya dari Thailand dan Taiwan. Di sisi lain, Indonesia juga mengekspor anggrek ke berbagai negara, seperti Jepang, Singapura, Hongkong, Belanda, Brunei Darussalam, Amerika Serikat, Korea Selatan, Taiwan, Uni Emirat Arab, Australia, RRC, Arab Saudi, Sri Langka, Kuwait, Bahrain, Fiji, Italia, Kamboja, Senegal, Kanada, Swiss, dan Norwegia. Ekspor anggrek Indonesia pada tahun 2005, 2006, dan 2007 masing-masing mencapai 772.390, 503.622, dan 500.000 kg, dengan nilai sebesar Rp21,6 milyar, Rp13,9 milyar, dan Rp13,8 milyar berturut-turut (Pusat Data dan Informasi 2007).

Produktivitas rerata anggrek di Indonesia mencapai 3,97 tangkai/tanaman/tahun, sedangkan Thailand dapat mencapai 10–12 tangkai/tanaman/tahun (Effendie et al. 2007). Salah satu kendala yang dihadapi dalam pembudidayaan anggrek di Indonesia ialah keterbatasan penyediaan benih bermutu yang bebas penyakit virus. Berdasarkan penelitian-penelitian terdahulu diketahui bahwa virus penyebab penyakit yang dominan pada anggrek di Indonesia ialah *tobacco mosaic virus strain orchid* (TMV-O) yang juga dikenal dengan nama *odontoglossum ringspot virus* (ORSV) dan *cymbidium mosaic virus* (CymMV) (Suseno 1978, Muharam & Widiastoety 1996, Inouye & Gara 1996). Kedua virus tersebut merupakan kendala utama juga pada pembudidayaan anggrek di berbagai negara (Wong et al. 1989, Freitas-Astúa 2003, Hu et al. 1993), dan dijumpai pada hampir semua genus anggrek (Wisler 1989). Infeksi kedua jenis virus tersebut dapat dideteksi secara cepat dengan metode serologis (Wisler et al. 1982).

Pengendalian CymMV dan TMV-O dapat dilakukan dengan berbagai cara, seperti penggunaan benih sehat, desinfeksi peralatan, dan penggunaan zat antiviral (Wisler 1989, Hu et al. 1994, Sulyo & Muharam 1997). Menurut Khentry et al. (2006) kompetisi di pasar internasional makin meningkat dari tahun ke tahun. Sejumlah negara membatasi impor berdasarkan kualitas, terutama permintaan anggrek bebas patogen. Dengan demikian, pengembangan sistem perbenihan anggrek bebas virus sangat diperlukan.

Studi penyebaran CymMV dan TMV-O dalam tiga dekade terakhir dilakukan secara terbatas di beberapa tempat di Jawa Barat dan DKI Jakarta. Sampai saat ini belum diketahui status penyebaran kedua virus utama tersebut di Indonesia. Deteksi penyebarannya yang lebih luas dengan cakupan sejumlah sentra produksi

anggrek perlu dilakukan untuk memperoleh gambaran yang pasti mengenai pentingnya kedua virus tersebut. Hal tersebut sangat dibutuhkan dalam merancang penyediaan benih sumber anggrek bermutu dan bebas virus secara nasional.

Di Amerika Serikat, CymMV merupakan patogen penting yang menginfeksi anggrek (Wisler 1989). Tanaka et al. (1997) melaporkan bahwa beberapa jenis anggrek di Thailand terinfeksi CymMV, yaitu *Cymbidium* (67%), *Cattleya* (46%), *Dendrobium* (66%), *Oncidium* (35%), *Phalaenopsis* (25%), dan *Vanda* (51%). Hasil penelitian Khentry et al. (2006) di Thailand menunjukkan bahwa infeksi CymMV dijumpai pada 27,6% dari 880 sampel anggrek yang diperbanyak melalui kultur jaringan.

Infeksi virus-virus utama pada tanaman anggrek pada umumnya menyebabkan penurunan vigor tanaman, kualitas bunga, serta gejala degeneratif karena perbanyakan anggrek dilakukan secara vegetatif secara terus-menerus (Pearson & Cole 2008). Kehilangan hasil akibat infeksi CymMV pernah diteliti oleh Wannakraij (2008) pada *Dendrobium* Jaq-Hawaii cv. Uniwai Pearl. Penelitian tersebut menunjukkan terjadinya penurunan pada berbagai peubah yang diamati, yaitu potensi pertumbuhan, jumlah tangkai bunga, panjang tangkai bunga, jumlah kuntum bunga, dan *vaselife*, masing-masing sebesar 29, 9, 11, 18, dan 10%.

Keragaman strain dijumpai pada CymMV dan TMV-O (Zettler 1990, Vejaratpimol et al. 1999, Moles et al. 2007). Keragaman strain kedua virus anggrek tersebut perlu dipelajari untuk mengetahui adanya strain yang bersifat lemah (*mild*) secara alamiah. Strain lemah bermanfaat untuk pengendalian virus dengan proteksi silang (*cross protection*) untuk mencegah infeksi strain kuat (*severe strain*) pada tanaman anggrek.

Pembebasan virus pada tanaman terinfeksi dapat menggunakan metode kemoterapi, yaitu dengan memanfaatkan senyawa antiviral (virusida). Salah satu senyawa antiviral yang paling efektif untuk penanggulangan virus tanaman, termasuk CymMV dan TMV-O pada tanaman anggrek, ialah ribavirin. Nama dagang senyawa tersebut yaitu Virazole (ICN 1229) (*1-β-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide*) (Toussaint et al. 1993). Ribavirin tidak menyebabkan pembentukan interferon dan memiliki aktivitas berspektrum luas terhadap virus-virus yang mengandung RNA atau DNA yang menginfeksi manusia, hewan, dan tanaman. Hu et al. (1994) mengemukakan bahwa di samping penggunaan zat antiviral, upaya pengendalian insiden penyakit yang disebabkan oleh virus pada tanaman anggrek

yaitu mencakup seleksi tanaman sehat, perbanyak tanaman bebas virus, dan eradikasi spesimen yang terinfeksi virus.

Porter & Kuehnle (dalam Kamemoto *et al.* 1999) menggunakan konsentrasi ribavirin sebesar 0,1 mM untuk pembebasan CymMV dan TMV-O dengan memanfaatkan *Dendrobium* Jaquiline Thomas cv. Uniway Mist yang terinfeksi sebagai bahan pengujian. Penggunaan ribavirin untuk pembebasan tanaman anggrek dari infeksi kedua virus tersebut juga dilaporkan Lim *et al.* (1993), Toussaint *et al.* (1993), dan Albouy *et al.* (1996). Senyawa antiviral digunakan pada penelitian eliminasi CymMV dari tanaman induk anggrek yang terinfeksi.

Penyediaan benih sumber yang bebas virus merupakan langkah penting untuk menghasilkan tanaman dan bunga anggrek yang bermutu dan bebas virus. Dengan demikian, upaya pembebasan tanaman anggrek dari infeksi virus-virus utama, khususnya CymMV dan TMV-O, dapat bermanfaat sebagai tahap awal untuk penyediaan pohon induk untuk benih yang bebas virus. Pada gilirannya, pembudidayaan anggrek bebas virus dapat menghasilkan tanaman dan bunga bermutu yang dapat berperan dalam mengisi pasar domestik, meningkatkan ekspor yang sekaligus menurunkan impor tanaman dan bunga anggrek.

Penelitian bertujuan mengetahui status penyebaran CymMV dan TMV-O pada anggrek komersial di sentra-sentra produksi Provinsi Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, Jawa Timur, DI Yogyakarta, dan Bali, serta mendapatkan informasi mengenai konsentrasi optimal senyawa antiviral ribavirin dalam eliminasi CymMV pada bahan perbanyak tanaman anggrek *Dendrobium*. Infeksi CymMV dan TMV-O diperkirakan dijumpai di seluruh sentra produksi anggrek berdasarkan uji deteksi menggunakan metode DAS ELISA. Melalui uji eliminasi CymMV dengan ribavirin diperkirakan ada konsentrasi optimal yang dapat digunakan dalam perbanyak virus tanpa mengganggu pertumbuhan benih tanaman anggrek.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Virologi, Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi), Segunung-Pacet, Cianjur, Jawa Barat sejak Bulan Desember 2010 sampai dengan April 2011.

Studi Penyebaran CymMV dan TMV-O pada Tanaman Anggrek

Pengumpulan sampel dari lapangan

Pengumpulan sampel tanaman anggrek dilakukan di enam provinsi, yaitu Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah,

Tabel 1. Lokasi pengambilan sampel anggrek untuk deteksi CymMV dan TMV-O (Locations for collecting orchid samples used for CymMV and TMV-O detection)

Provinsi (Province)	Kabupaten/kota (District/city)
Banten	Tangerang, Kota Tangerang, Tangerang Selatan, Serang
Jawa Barat	Bogor, Cianjur, Sukabumi, Bandung Barat
Jawa Tengah	Magelang, Surakarta, Semarang, Salatiga
DI Yogyakarta	Sleman, Kodya Yogyakarta
Jawa Timur	Kota Batu, Kab. Malang, Kodya Malang, Pasuruan
Bali	Denpasar, Karangasem, Tabanan, Badung

DI Yogyakarta, Jawa Timur, dan Bali. Sebanyak 2 – 4 kabupaten/kota dipilih secara *purposive sampling* pada setiap provinsi tersebut, sehingga jumlah kabupaten yang disurvei yaitu sebanyak 22 (Tabel 1).

Sampel tanaman anggrek dikumpulkan dari kebun petani anggrek berupa potongan daun muda atau petal bunga. Setiap sampel tersebut disimpan dalam kantong plastik transparan dan diberi label serta disimpan dalam kemasan dingin (*cool box*). Uji DAS ELISA dilakukan terhadap semua sampel yang dikumpulkan. Sebanyak 100 sampel bagian tanaman anggrek dikumpulkan dari kebun petani anggrek pada setiap kabupaten/kota yang disurvei. Sampel-sampel tersebut berasal dari dua komoditas anggrek dominan di lokasi-lokasi tersebut.

Deteksi CymMV dan TMV-O pada sampel dengan uji DAS ELISA

Keberadaan CymMV dan TMV-O pada seluruh sampel anggrek diuji secara serologis. Metode uji yang digunakan ialah *direct antibody sandwich enzyme linked immuno sorbent assay* (DAS ELISA). Immunoglobulin Gamma (Ig-G) dan konyugatnya diperoleh dari DSMZ, Jerman.

Tahapan uji DAS ELISA mencakup: (1) *coating* lubang pada piring ELISA, yaitu mengisikan 100µl Ig-G CymMV atau TMV-O yang larutkan dalam larutan penyangga *coating*, (2) piring ELISA diinkubasikan pada suhu 37°C selama 2-4 jam, (3) piring ELISA dicuci dengan larutan *phosphate buffer saline-tween* (PBST) sebanyak tiga kali, (4) lubang piring ELISA selanjutnya diisi cairan perasan sampel tanaman, yaitu 0,1 g daun per 0,5 ml larutan penyangga ekstraksi, (5) piring ELISA selanjutnya diinkubasi selama 1 malam pada suhu 4°C, (6) piring ELISA dicuci dengan larutan PBST sebanyak tiga kali, (7) lubang pada piring ELISA diisi 100µl Ig-G yang dilabel dengan enzim fosfatase, yang disuspensi dalam larutan penyangga *conyugate*, (8) piring ELISA diinkubasi pada suhu 37°C selama 4 jam, (9) selanjutnya dicuci kembali dengan PBST

sebanyak tiga kali, (10) tambahkan sebanyak 100 µl larutan substrat (10 mg *p-nitrophenyl phosphate* dalam 10 ml larutan penyangga *substrate*) ke dalam setiap lubang, (11) piring ELISA selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang, selama 30 – 40 menit, dan (12) pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 410 nm dengan alat pembaca ELISA (*ELISA reader*). Sampel dikatakan positif mengandung CymMV atau TMV-O bila nilai absorbansinya lebih besar atau sama dengan dua kali dari nilai absorbansi kontrol negatif, yaitu sampel tanaman anggrek sehat. Data hasil uji ELISA yang ditabulasi ialah persentase infeksi CymMV, TMV-O, dan infeksi ganda kedua virus tersebut pada sampel dari setiap lokasi.

Uji Eliminasi CymMV pada Bahan Perbanyakan *Dendrobium* dengan Ribavirin

Bahan yang digunakan dalam uji ini ialah plbs *Dendrobium* Jayakarta yang terinfeksi CymMV. *Protocorm like bodies* diperbanyak terlebih dahulu dalam media Vacin & Went cair sebelum perlakuan pemberian ribavirin. Tahap pengujian mencakup (1) pemberian antiviral ribavirin pada kultur plbs dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm, masing-masing dengan tiga ulangan (botol kultur), rancangan yang digunakan ialah acak lengkap, (2) subkultur terhadap masing-masing perlakuan dilakukan setiap 18 hari (Albouy *et al.* 1996), (3) pada setiap subkultur, sampel plbs diambil untuk pengujian CymMV menggunakan DAS ELISA, dan (4) pengamatan dilakukan terhadap persentase plbs yang bebas CymMV dan persentase plbs yang bertahan hidup.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi Penyebaran CymMV dan TMV-O pada Tanaman Anggrek

Hasil uji sampel yang dikumpulkan dari 22 kabupaten/kota dengan metode DAS ELISA disajikan pada Tabel 2.

Hasil pengujian terhadap sampel bagian tanaman anggrek dari 22 kabupaten/kota menunjukkan bahwa infeksi CymMV dan TMV-O bervariasi dari satu lokasi ke lokasi lain. Infeksi CymMV pada sampel tanaman anggrek umumnya dijumpai di seluruh kabupaten yang disurvei, kecuali di Magelang dan Semarang (Jawa Tengah) dan Kodya Yogyakarta (DI Yogyakarta). Persentase infeksi CymMV tertinggi dijumpai pada sampel dari Sukabumi (Jawa Barat) sebesar 79%. Infeksi TMV-O juga dijumpai di seluruh kabupaten/kota, kecuali di Pasuruan (Jawa Timur) dengan infeksi tertinggi pada sampel dari Cianjur sebesar 97,92%

(Tabel 2). Infeksi ganda kedua virus tersebut dijumpai pada sebagian kabupaten/kota yang disurvei dengan infeksi tertinggi dijumpai di Kota Denpasar sebesar 62%. Adanya variasi persentase sampel anggrek terinfeksi oleh CymMV, TMV-O, atau infeksi ganda kedua virus tersebut kemungkinan disebabkan oleh asal benih dan stadia umur tanaman.

Sampel yang berasal dari benih hibrida asal biji menunjukkan persentase infeksi CymMV atau TMV-O yang rendah. Persentase infeksi kedua virus tersebut makin tinggi sejalan dengan makin tuanya tanaman anggrek. CymMV umumnya berasosiasi dengan gejala klorosis pada daun, sedangkan TMV-O berasosiasi dengan gejala bercak hitam pada daun (Wisler 1989). Walaupun demikian, sampel yang tidak menunjukkan gejala tersebut dapat mengandung salah satu atau kedua virus tersebut. Hasil uji sampel dari lapangan menunjukkan bahwa persentase tertinggi insiden infeksi CymMV, TMV-O, atau infeksi ganda kedua virus tersebut dijumpai di Provinsi Bali, masing-masing sebesar 62,50; 61,35; dan 31,50% (Tabel 2). Tingginya persentase sampel terinfeksi tersebut kemungkinan besar disebabkan oleh asal benih yang membawa virus dan penularan secara mekanik melalui alat potong selama pemeliharaan tanaman. *Tobacco mosaic virus strain orchid* termasuk virus utama pada tanaman anggrek yang mudah sekali menular secara mekanik melalui alat potong yang tidak didesinfeksi (Inouye & Gara 1996). Pada umumnya hasil uji dengan metode DAS ELISA terkait dengan gejala yang tampak pada tanaman sampel. Namun demikian, ada juga tanaman yang tidak menunjukkan gejala, tetapi positif terinfeksi oleh CymMV atau TMV-O. Adanya keragaman gejala infeksi CymMV dan TMV-O atau virus lainnya pada tanaman anggrek disajikan dalam Gambar 1 dan 2.

Hasil pengamatan di lapangan menunjukkan bahwa gejala infeksi CymMV atau TMV-O sering dijumpai pula pada benih kompotan. Hal tersebut menunjukkan bahwa infeksi kedua virus tersebut kemungkinan besar terjadi pada tanaman-tanaman induk untuk perbanyakan. Menurut Wisler (1989) infeksi virus anggrek melalui bahan perbanyakan sangat berbahaya, karena terjadi penyebarluasan virus yang cepat.

Keberadaan infeksi CymMV dan TMV-O dilaporkan oleh Muharam & Widyastoeti (1996) maupun oleh Inouye & Gara (1996) dari beberapa tempat di Indonesia dengan intensitas serangan yang berbeda-beda. Kedua virus tersebut dapat terus menjadi masalah pada budidaya tanaman anggrek, bila tidak ada upaya untuk mengeliminasi. Benih meriklon yang diimpor sangat potensial menjadi sumber infeksi pertama. Pihak importir Indonesia tampaknya tidak mensyaratkan benih yang diimpor harus bebas CymMV dan TMV-O. Dengan demikian, kedua

Tabel 2. Persentase infeksi CymMV dan TMV-O pada sampel yang dikumpulkan dari 22 kabupaten/kota di enam provinsi (Percentages of CymMV and TMV-O infection on orchid samples collected from 22 districts/cities in six provinces)

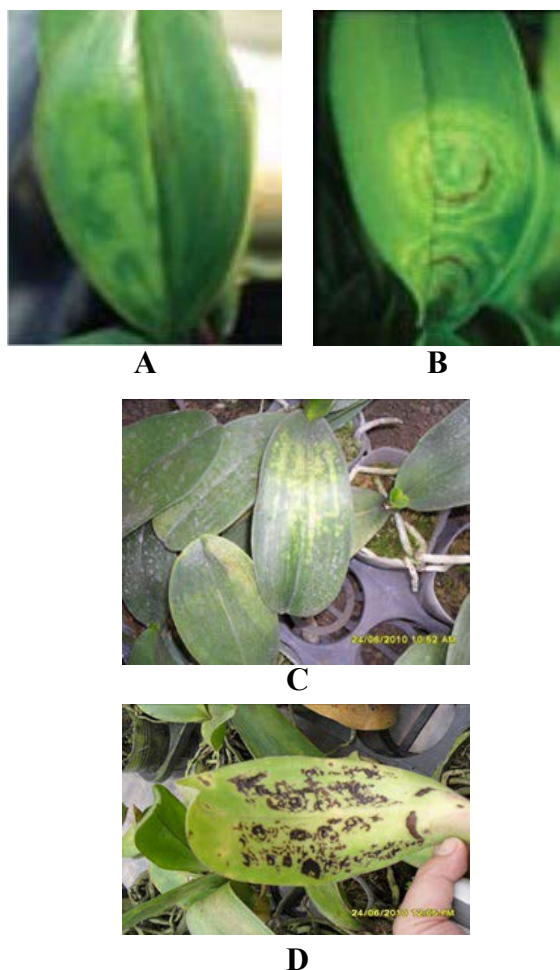
Lokasi (Location)	Persentase sampel anggrek terinfeksi (Percentages of infected orchid samples), %		
	CymMV	TMV-O	CymMV & TMV-O
Banten			
Tangerang	51,00	4,00	0,00
Kota Tangerang	54,73	61,05	32,63
Tangerang Selatan	31,00	40,00	15,00
Serang	0,00	91,67	0,00
Rerata (Average)	34,18	26,26	11,91
Jawa Barat			
Bogor	7,00	18,00	0,00
Cianjur	18,75	97,92	17,00
Sukabumi	79,00	16,00	15,00
Bandung Barat	43,00	63,00	28,00
Rerata (Average)	30,50	19,75	10,75
Jawa Tengah			
Magelang	0,00	7,00	0,00
Surakarta	68,00	8,00	15,00
Semarang	0,00	1,28	0,00
Salatiga	1,00	52,00	0,00
Rerata (Average)	17,25	17,07	3,75
DIY Yogyakarta			
Sleman	76,74	61,63	52,00
Kodya Yogyakarta	0,00	60,00	0,00
Rerata (Average)	38,37	60,82	26,00
Jawa Timur			
Kota Batu	5,95	16,67	0,00
Kab. Malang	4,00	65,00	1,00
Kota Malang	5,00	12,50	0,00
Pasuruan	5,95	0,00	0,00
Rerata (Average)	5,23	23,54	0,25
Bali			
Kota Denpasar	65,00	94,00	62,00
Karang Asem	64,00	57,00	49,00
Tabanan	46,00	25,00	0,00
Badung	75,00	69,40	15,00
Rerata (Average)	62,50	61,35	31,50

virus tersebut sulit untuk dieliminasi dari pertanaman anggrek.

Dari segi kelangsungan usaha, terutama untuk bunga potong yang jangka waktu pemeliharannya lama, kehadiran kedua virus tersebut perlu mendapat perhatian, mengingat keduanya dapat bertahan pada jaringan mati, rokok, gunting pangkas, meja, pot, dan media tanam bekas dalam jangka waktu yang lama. Bahan dan peralatan tersebut dapat menjadi sumber inokulum bagi tanaman anggrek muda yang semula

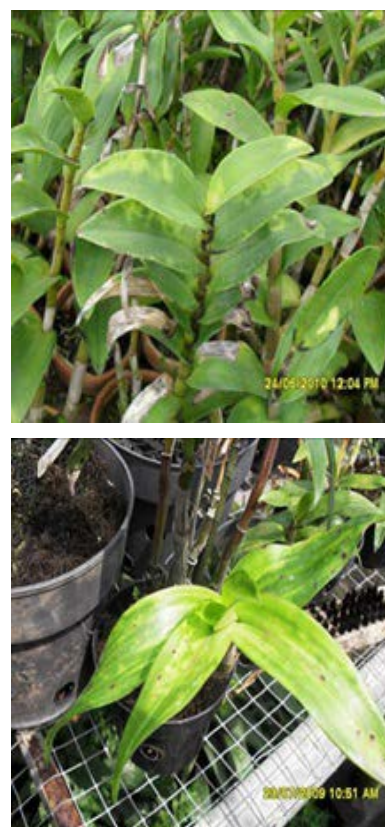
bebas virus. Penularan virus, khususnya TMV-O, secara mekanik melalui alat potong atau peralatan lainnya yang tidak didesinfeksi dapat menyebabkan infeksi terjadi secara terus-menerus di lapangan. Dengan demikian, desinfeksi alat potong, misalnya pencelupan pada larutan kloroks, merupakan upaya yang harus dilakukan oleh para penanam anggrek.

Dari hasil wawancara dengan para penganggrek di kota-kota besar, sebagian besar varietas yang diperdagangkan merupakan varietas impor, seperti



Gambar 1. Gejala umum infeksi virus pada anggrek *Phalaenopsis*: (a) gejala infeksi TMV-O, (b) gejala bercak bercincin, diduga disebabkan oleh virus lainnya, (c) gejala klorosis yang berasosiasi dengan CymMV, dan (d) gejala bercak nekrotik, umumnya merupakan gabungan infeksi CymMV dan TMV-O (*Common symptoms of virus infection on Phalaenopsis: (a) TMV-O infection, (b) ring spots suspected to be associated with other orchid viruses, (c) chlorosis associated with CymMV infection, and (d) necrotic spots, generally caused by double infection of CymMV and TMV-O*)

Dendrobium yang berasal dari Thailand dan *Phalaenopsis* dari Taiwan. Dalam usaha peranggrekan di Kota Bandung dijumpai adanya deliniasi dalam pembudidayaan anggrek. Penganggrek ada yang berusaha dalam kultur jaringan saja untuk memproduksi planlet botol dan ada pula yang hanya melakukan pembesaran tanaman. Penganggrek yang tidak mempunyai laboratorium umumnya membeli benih kompotan atau *single pot*.



Gambar 2. Gejala umum infeksi virus pada *Dendrobium* (*Common symptoms of virus infection on Dendrobium*)

Uji Eliminasi CymMV pada Bahan Perbanyakan *Dendrobium* dengan Ribavirin

Gambar 3 memperlihatkan salah satu botol kultur dalam perbanyakan plbs *Dendrobium* Jayakarta yang terinfeksi CymMV dalam media Vacin & Went cair. *Protocorm like bodies* tersebut selanjutnya digunakan untuk uji eliminasi CymMV dengan senyawa ribavirin.

Pemberian ribavirin dengan konsentrasi 10–50 ppm dalam media cair Vacin & Went (Table 3) tidak memberikan perbedaan penampilan warna plbs *Dendrobium* Jayakarta yang terinfeksi CymMV dibandingkan dengan tanpa ribavirin. Seluruh ulangan memperlihatkan pertumbuhan plbs berwarna hijau. Uji DAS ELISA terhadap plbs setelah subkultur kesatu dan kedua, masing-masing selama 18 hari, menunjukkan bahwa semua sampel yang diuji masih mengandung CymMV. Namun demikian, setelah subkultur ketiga, konsentrasi ribavirin 10 dan 20 ppm dapat membebaskan plbs dari infeksi CymMV sebesar 33,33%. Pemberian ribavirin sebanyak 30 sampai 50 ppm pada media cair Vacin & Went pada subkultur ketiga dapat secara penuh (100%) membebaskan plbs dari infeksi CymMV (Table 4). Hal tersebut berbeda nyata dengan perlakuan tanpa ribavirin. Persentase plbs yang bebas CymMV pada masing-masing konsentrasi ribavirin dan subkultur plbs disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 3. Persentase plbs *Dendrobium* Jayakarta bebas CymMV setelah subkultur pada media cair Vacin & Went mengandung ribavirin (Percentage of CymMV-free plbs of *Dendrobium* Jayakarta after subculturing on liquid Vacin & Went media containing ribavirin)

Konsentrasi ribavirin (Concentration of ribavirin) ppm	Plbs bebas CymMV (CymMV-free plbs of <i>Dendrobium</i> Jayakarta)*, %		
	Subkultur 1 (Subculture 1)	Subkultur 2 (Subculture 2)	Subkultur 3 (Subculture 3)
0	0 a	0 a	0 a
10	0 a	0 a	33,33 ab
20	0 a	0 a	33,33 ab
30	0 a	0 a	100 b
40	0 a	0 a	100 b
50	0 a	0 a	100 b

*Rerata yang diikuti huruf yang sama dalam setiap kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5% menurut uji Duncan (Mean followed by the same letters in each column are not significantly different at 5% level with Duncan test)

Tabel 4. Persentase plbs *Dendrobium* Jayakarta yang tumbuh setelah subkultur pada media cair Vacin & Went mengandung ribavirin (Percentage of growing plbs of *Dendrobium* Jayakarta after subculturing on liquid Vacin&Went media containing ribavirin)

Konsentrasi ribavirin (Concentration of ribavirin), ppm	Persentase plbs yang tumbuh (Percentage of growing plbs)*, %		
	Subkultur 1 (Subculture 1)	Subkultur 2 (Subculture 2)	Subkultur 3 (Subculture 3)
0	100 a	100 a	100 a
10	100 a	100 a	100 a
20	100 a	100 a	100 a
30	100 a	100 a	88,89 a
40	100 a	100 a	77,78 a
50	100 a	83,33 a	88,89 a



Gambar 3. *Protocorm like bodies* *Dendrobium* varietas Jayakarta terinfeksi CymMV yang diperbanyak dalam media Vacin&Went cair (CymMV infected plbs of *Dendrobium* Jayakarta propagated in liquid Vacin&Went medium)

Hasil penelitian tersebut mengindikasikan bahwa zat antiviral ribavirin pada taraf konsentrasi yang diuji memiliki aktivitas antiviral terhadap CymMV dengan kemampuan eliminasi berkisar antara 33,33–100%. *Protocorm like bodies* *Dendrobium* Jayakarta yang terbebas dari infeksi CymMV yaitu dari perlakuan



Gambar 4. *Protocorm like bodies* *Dendrobium* Jayakarta yang ditumbuhkan pada media Vacin & Went padat setelah perlakuan subkultur ketiga dengan perlakuan ribavirin 30 ppm (Plbs of *Dendrobium* Jayakarta grown on Vacin & Went media after the third subculturing with 30 ppm ribavirin)

30–50 ppm ribavirin dapat digunakan sebagai bahan perbanyakkan untuk menghasilkan benih tanaman bebas CymMV.

Hasil penelitian Albouy *et al.* (1996) menunjukkan bahwa penggunaan Virazole (nama dagang ribavirin), pada konsentrasi 25 ppm dapat membebaskan infeksi

virus pada planlet anggrek sampai 95%. Hal tersebut dilakukan dengan lima kali subkultur, masing-masing setiap 18 hari, pada media kultur yang mengandung 25 ppm ribavirin. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian ini, yaitu pembebasan infeksi CymMV secara total (100%) dengan ribavirin pada konsentrasi 30 sampai dengan 50 ppm, tetapi hanya dengan tiga kali subkultur, masing-masing selama 18 hari. Hasil penelitian Diningsih *et al.* (2010) menunjukkan bahwa sebanyak 20% plbs anggrek *Dendrobium*. Burana Stripe dapat dibebaskan dari infeksi CymMV dengan pemberian ribavirin konsentrasi 40 ppm pada media padat selama 2 bulan tanpa subkultur.

Perlakuan antiviral ribavirin sampai konsentrasi 50 ppm dalam penelitian ini tidak secara nyata berpengaruh terhadap persentase plbs *Dendrobium* Jayakarta yang hidup pada setiap subkultur plbs. Persentase plbs yang tumbuh pada tiap perlakuan pemberian senyawa ribavirin disajikan dalam Tabel 3.

Pada subkultur kedua, hanya perlakuan ribavirin 50 ppm yang menyebabkan 16,67% plbs mengalami kematian. Pada subkultur ketiga, kematian plbs terjadi pada perlakuan ribavirin 30, 40, dan 50 ppm, dengan persentase lebih kecil dari 20%, walaupun tidak berbeda nyata dengan perlakuan tanpa ribavirin. *Protocorm like bodies* yang hidup dan tumbuh baik berwarna hijau. Gambar 4 memperlihatkan plbs yang hidup dan tumbuh baik pada media Vacin & Went setelah perlakuan subkultur ketiga dengan perlakuan ribavirin 30 ppm.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Insiden infeksi CymMV dan TMV-O pada tanaman anggrek dijumpai di seluruh pertanaman anggrek yang disurvei di enam provinsi, yaitu Banten, Jawa Barat, Jawa Tengah, DI Yogyakarta, Jawa Timur, dan Bali. Beragamnya persentase infeksi kedua virus tersebut pada sampel yang diuji menunjukkan adanya keragaman dalam pengelolaan pertanaman, termasuk asal dan kualitas benih. Infeksi kedua virus tersebut terjadi secara tunggal ataupun ganda. Gejala visual pada tanaman tidak secara spesifik mengindikasikan adanya infeksi CymMV atau TMV-O. Oleh karena itu, deteksi secara serologi dengan DAS ELISA cukup penting dilakukan untuk mendeteksi keberadaan kedua virus tersebut pada tanaman anggrek.
2. Antiviral ribavirin dapat digunakan untuk mengeliminasi CymMV pada plbs *Dendrobium* Jayakarta pada konsentrasi minimum 30 ppm

dengan tiga kali subkultur pada media Vacin & Went cair, masing-masing selama 18 hari. Pada konsentrasi 30 ppm, pertumbuhan plbs anggrek tersebut tidak terganggu. Pemanfaatan senyawa antiviral ribavirin sangat penting dalam kultur jaringan dalam rangka menyediakan tanaman anggrek bebas CymMV.

PUSTAKA

1. Albouy, J, Flouzat, C, Kusiak, C & Tronchet, M 1996, 'Eradication of orchid viruses by chemotherapy from *in vitro* culture of *Cymbidium*', *ISHS Acta Hort.* 234, *Int. Symp. on Vir. Dis. of Ornamental Plant*, VII, (Abstract).
2. Diningsih, E, Muharam A, Sulyo, Y, Raharjo, IB & Widiastoety, D 2010, 'Eliminasi *cymbidium mosaic virus* (CymMV) pada anggrek *Dendrobium* dengan senyawa antiviral amantadin dan ribavirin', *Prosiding Seminar Nasional Hortikultura Indonesia*, Denpasar, Bali, Perhimpunan Hortikultura Indonesia, Fak. Pertanian, IPB, Bogor, hlm 932-40.
3. Effendie, K, Mayrowani, H, Widyastoety, D, Nurmalinda, Kartikaningrum, S & Hayati, NQ 2007, *Prospek dan arah pengembangan agribisnis anggrek*, ed. kedua, Badan Litbang Pertanian, Jakarta.
4. Freitas-Astúa, J 2003, 'Orchid viruses', *Bull. Am Orchid Soc.*, <http://www.aos.org/AM/Template.cfm?Section=pests_and>.
5. Hu, JS, Ferreira, S, Wang, M & Xu, MQ 1993, 'Detection of cymbidium mosaic virus, odontoglossum ringspot virus, tomato spotted wilt virus, and potyviruses infecting orchids in Hawaii', *Plant Dis.*, no. 77, pp. 464-68.
6. Hu, JS, Ferreira, S, Xu, MQ, Lu, M, Iha, M, Pflum, E & Wang, M 1994, 'Transmission, movement, inactivation of cymbidium mosaic and odontoglossum ringspot viruses', *Plant Dis.*, no. 78, pp. 633-36.
7. Inouye, N & Gara, IW 1996, 'Detection and identification of viruses of orchids in Indonesia', *Bull. Res. Inst. Bioresources*, vol. 2, no. 4, pp. 109-18.
8. Kamemoto, H, Amore, TD & Kuehnle, AR 1999, *Breeding Dendrobium orchids in Hawaii*, Univ. Hawaii Press, Hawaii.
9. Khentry, Y, Paradoruwat, A, Tantiwiwat, S, Phansiri, S & Thaveechai, N 2006, 'Incidence of cymbidium mosaic virus and odontoglossum ringspot virus on *in vitro* native orchid seedling and cultivated orchid mericlones', *Kasetsart J. Nat. Sci.*, no. 40, pp. 49-57.
10. Lim, ST, Wong, SM & Goh, CJ 1993, 'Elimination of cymbidium mosaic virus and odontoglossum ringspot virus from orchids by meristem culture and thin section culture with chemotherapy', *Ann. Appl. Biol.*, vol. 2, no. 122, pp. 289-97.
11. Moles, M, Delatte, H, Farreyrol & Grisoni, M 2007, 'Evidence that cymbidium mosaic virus (CymMV) isolates divided into two subgroups based on nucleotide diversity of coat protein and replicase genes', *Arc., Virol.*, no. 152, pp. 705-15.
12. Muharam, A & Widyastoeti, D 1996, *Inventarisasi penyakit yang disebabkan oleh virus pada tanaman anggrek.*, Laporan penelitian, Balai Penelitian Tanaman Hias, Jakarta.
13. Pearson, MN & Cole, JC 2008, 'The effects of cymbidium mosaic virus and odontoglossum ringspot virus on the growth of *Cymbidium* orchids', *J. Phytopathol.*, vol. 3, no. 119, pp. 193-97.

14. Pusat Data dan Informasi Pertanian 2007, *Verifikasi dan validasi data hortikultura*, Pusat Data dan Informasi Pertanian, Departemen Pertanian, Jakarta.
15. Sulyo, Y & Muharam, A 1997, 'Virus-virus penting pada anggrek, deteksi dan cara pengendaliannya', *Prosiding. Kongres Nasional dan Seminar Ilmiah XIV PFI*, Palembang, hlm. 427-33.
16. Suseno, R 1978, 'Virus mosaik cymbidium (*cymbidium mosaic virus* = CymMV) pada *Cattleya* spp. di Indonesia', *Bul. Hama dan Penyakit Tumbuhan*, no. 2, hlm. 9-11.
17. Tanaka, S, Nishii, H, Ito, S & Iwaki, MK 1997, 'Detection of cymbidium mosaic potexvirus and odontoglossum ringspot tobamovirus from Thai orchids by rapid immunofilter paper assay', *Plant Dis.*, no. 81, pp. 167-70.
18. Toussaint, A, Kummert, J, Maroquin, C, Lebrun, A & Roggemans, J 1993, 'Use of Virazole® to eradicate odontoglossum ringspot virus from *in vitro* culture of *Cymbidium*', *Sw. Pl. Cell Tis. and Org. Cult.*, no. 32, pp. 303-09.
19. Vejaratpimol, R, Channuntapipat C, Pewnim, T, Ito, K, Iizuka, M & Minamiura, SN 1999, 'Detection and serological relationship of cymbidium mosaic virus isolates', *J. Biosci. Bioengin.*, vol. 2, no. 87, pp. 161-68.
20. Wannakrairoj, S 2008, 'Impact of cymbidium mosaic virus on growth and yield of *Dendrobium* Jaq-Hawaii cv. Uniwai Pearl', *ISHS Acta. Hort.* 788, *Int. Workshop on Ornamental Plants* (Abstract).
21. Wong, SM, Soo, F, Ching, CG & Lim, G 1989, 'Cymbidium mosaic virus and odontoglossum ringspot virus in commercial orchids in Singapore', *Phytopathol.*, no. 79, pp. 1149-50.
22. Wisler, GC, Zettler, FW & Purcifull, DF 1982, 'A serodiagnostic technique for detecting cymbidium mosaic virus and odontoglossum ringspot virus', *Phytopathol.*, no. 72, pp. 835-37.
23. Wisler, GC 1989, *How to control orchid viruses: the complete book*, Maupin House Pub. Gainesville, Florida.
24. Zettler FW, Ko, NJ, Wisler, GC, Elliott, MS & Wong, SM 1990, 'Viruses of orchids and their control', *Plant Dis.*, no. 74, pp.